

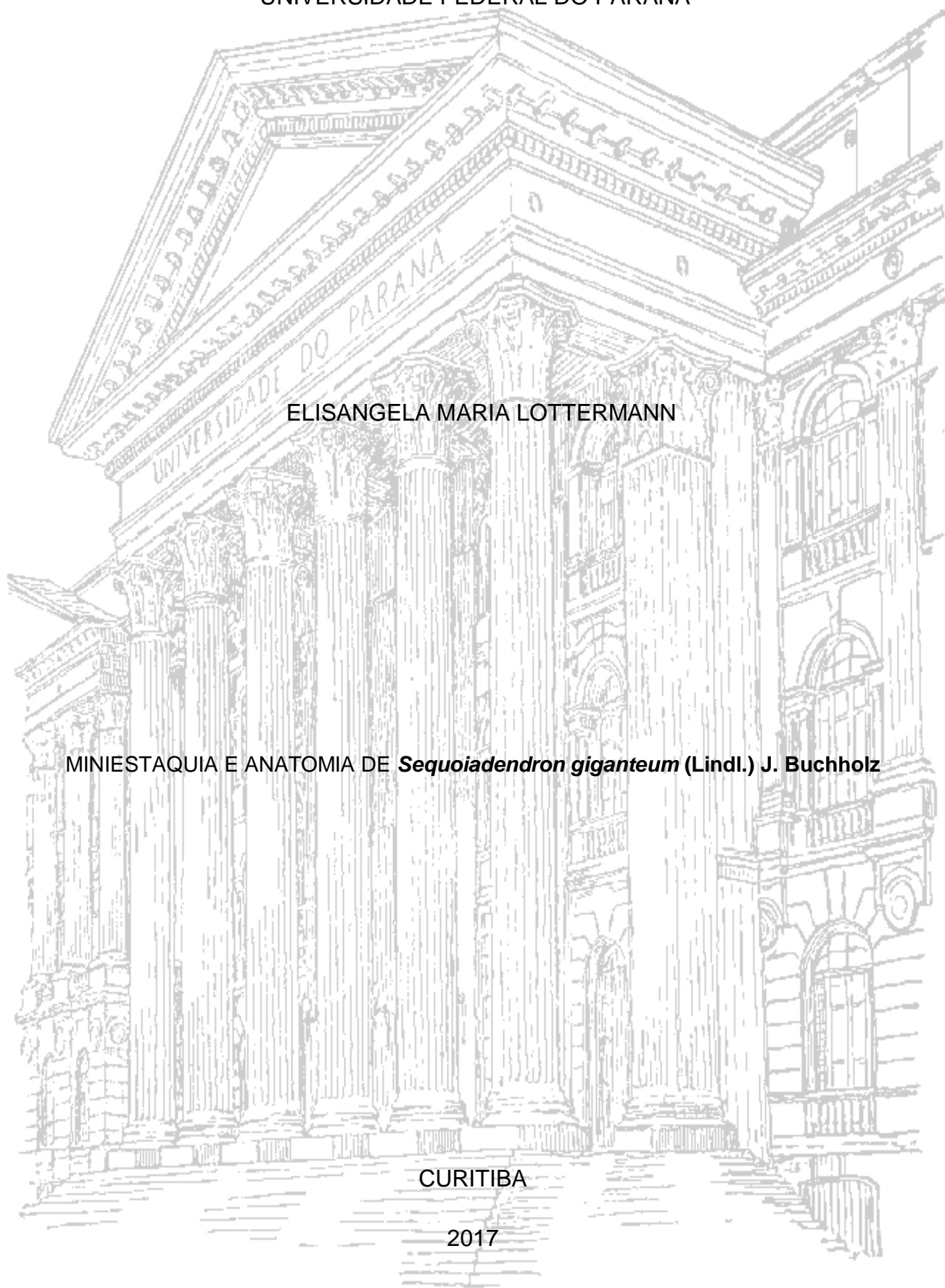
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ELISANGELA MARIA LOTTERMANN

MINIESTAQUIA E ANATOMIA DE *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) J. Buchholz

CURITIBA

2017



ELISANGELA MARIA LOTTERMANN

MINIESTAQUIA E ANATOMIA DE *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) J.
Buchholz

Monografia apresentada ao Curso de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Paraná como requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Katia Christina
Zuffellato-Ribas

CURITIBA

2017

TERMO DE APROVAÇÃO

ELISANGELA MARIA LOTTERMANN

MINIESTAQUIA E ANATOMIA DE *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) J. Buchholz

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

Professora Doutora Katia Christina Zuffellato-Ribas

Departamento de Botânica - Setor de Ciências Biológicas – UFPR

Professor Doutor Bruno Francisco Sant'Anna dos Santos

Departamento de Botânica - Setor de Ciências Biológicas – UFPR

Mestre Francielen Paola de Sá

Departamento de Fitotecnia e Fitosanitarismo - Setor de Ciências Agrárias – UFPR

Curitiba, 28 de novembro de 2017

“Aos meus pais, familiares, cônjuge, amigos e professores que acreditaram, me apoiaram e me deram todo o suporte para concluir essa jornada de muitos aprendizados e crescimento, que enfim, torna-se realizada com grande êxito.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus e ao seu filho Jesus, que guiaram meus passos, me protegeram e ensinaram por todos os momentos nessa jornada. À tais ofereço minha fé exponencial, que dissolve barreiras e reergue aqueles que persistem.

À minha madrinha Verena, cuja coragem, amor, dedicação e determinação foram os fatores determinantes para me trazer até aqui e me fazer ser grande parte de quem sou hoje. À ti, minha eterna gratidão por ser exemplo de grande força, por tudo que fez e faz à todos à sua volta.

À minha mãe Claudete, flor e rainha da minha vida, que me deu asas, criou e alimentou com amor divino, que me regou desde sempre com valores inestimáveis, que me concedeu alegria, positividade e otimismo em tudo a ser feito, afeto, contemplação e gratidão por tudo que existe.

Ao meu pai Dionísio, por ensinar a tranquilidade e a serenidade, o trabalho, a força, a fé em Deus. À ti agradeço por ser fortaleza e por trazer a compreensão e compaixão.

Aos meus avós e familiares, cujos rezos e apoio continuam sendo fundamentais a cada etapa realizada. Agradeço especialmente pelos momentos de fé, perdão, união e confraternização.

Ao meu amado companheiro Solon, cuja fonte de amor me fez renascer para uma nova vida, um anjo em pessoa que inspira valores, princípios e missão. À você agradeço por andarmos de mãos dadas e aprendermos juntos à compreender melhor o sentido da vida todos os dias, multiplicando o amor que há em nós.

À minha querida sogra Iraíde, por ser mãe e criar seu filho tão amado. Agradeço por ser exemplo de mulher empoderada e por todo apoio à nós concedido.

À minha orientadora de excelência Prof. Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas, por todo auxílio, dedicação, ensinamentos e amizade, tão importantes nessa etapa conclusiva.

Ao meu co-orientador Mestrando Leandro Latoch, por todo suporte, dicas e direcionamento valiosos, pela parceria e trabalho em todos os momentos no Laboratório GEPE.

À todos os colegas de laboratório e faculdade, que de alguma maneira, contribuíram na construção dessa realização.

Aos meus grandes amigos irmãos, que sempre deram a cor, vivacidade e brilho para eu persistir em cada desafio, ciente que a evolução se dá através da doação e do puro amor.

Sou grata também à todos os seres vivos desse planeta, cujo mistério, beleza e perfeição me encantaram a ponto de me levarem a estudar a vida no seu viés científico tão aprofundadamente.

Sou plenamente grata à todos os professores, mestres, funcionários das mais diversas áreas da instituição Universidade Federal do Paraná, assim como também àqueles envolvidos no Programa Ciência sem Fronteiras, por terem me concedido tantas experiências valiosas.

Por fim, sou eternamente grata à vida e à todo o amor presente nela.

“Realmente, a única coisa que faz sentido é lutar por uma maior iluminação coletiva.”

Elon Musk

RESUMO

Sequoiadendron giganteum (Lindl.) J. Buchholz é uma espécie nativa da encosta oeste da Sierra Nevada, localizada no centro da Califórnia e é capaz de viver milhares de anos, sendo conhecida popularmente como sequoia gigante e sendo uma das maiores árvores em altura do mundo. Possui importância na silvicultura e na produção de compostos bioativos de seu óleo essencial, além de apresentar valor paisagístico. Objetivando a multiplicação vegetativa de matrizes seminais, miniestacas de *S. giganteum* foram coletadas no viveiro a pleno sol pertencente ao Laboratório de Macropropagação – GEPE (Grupo de Estudo e Pesquisa em Estaquia) em março/2017, a partir de 7 minicepas com 3 anos de idade. Foram coletadas miniestacas com 5-7 cm de comprimento, confeccionadas com corte em bisel na base e reto no ápice, sendo retiradas as folhas do terço basal. Para comprovar a hipótese de que a multiplicação vegetativa de *S. giganteum* via miniestaquia não necessita de ácido indol butírico (IBA) para a indução do enraizamento, as miniestacas foram submetidas a diferentes concentrações (0, 1500, e 3000 mg L⁻¹ IBA), por 10 segundos de imersão na base, sendo em seguida plantadas em tubetes contendo vermiculita de granulometria fina e Tropstrato® (1:1), acondicionados em casa de vegetação climatizada por 125 dias. Foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de enraizamento, o número e comprimento de raízes/miniestaca, miniestacas vivas, miniestacas mortas e porcentagem de brotações. Além disso, realizou-se a metodologia usual em anatomia vegetal para a análise, registro via fotomicrografias e descrição dos cortes anatômicos. A propagação vegetativa de *S. giganteum* por meio da miniestaquia apresentou potencialidade para multiplicação clonal da espécie sem a utilização de IBA. A porcentagem máxima de enraizamento foi de 67,50%, sem diferença significativa entre os tratamentos, com baixíssima mortalidade (2,50%) no tratamento de 0 mg L⁻¹ IBA. A emissão de raízes de *S. giganteum* ocorreu provavelmente a partir das células do parênquima cortical das miniestacas, não sendo encontradas barreiras anatômicas que impedissem tal processo.

Palavras-chave: Propagação vegetativa, Miniestacas, IBA.

ABSTRACT

Sequoiadendron giganteum (Lindl.) J. Buchholz is a native species of the west slope of the Sierra Nevada in central California and is capable of living thousands of years, being known popularly as giant sequoia and being one of the tallest trees in the world. It has importance in environmental forestry and in the production of bioactive compounds of its essential oil, besides having an aesthetic value. Aiming at the vegetative multiplication of ministumps, minicuttings of *S. giganteum* were collected in the plant nursery exposed to the sun belonging to the Laboratory of Macropropagation – GEPE (Study and Research Group in Cuttings), Department of Botany of UFPR, in March/2017, from 7 ministumps with 3 years old. Minicuttings of 5-7 cm were collected, with a bevel cut at the base and a straight cut at the apex, 1/3 of the leaves being removed from the base. In order to verify the effects of indolebutyric acid (IBA) on rhizogenesis, minicuttings were submitted to different concentrations of indolebutyric acid (IBA) (0, 1500, and 3000 mg L⁻¹), for 10 seconds of immersion in the base, being then planted in tubes containing vermiculite of fine granulometry. The following variables were evaluated: rooting percentage, number and length of roots, live minicuttings, dead minicuttings and shoots percentage. In addition, anatomical sections and description of the caulinar anatomy were performed. The vegetative propagation of *S. giganteum* through minicutting presented potential for clonal multiplication of the species, without using IBA. The maximum percentage of rooting was 67.50%, with no significant difference between treatments, with very low mortality (2.50%) in the treatment of 0 mg L⁻¹ of IBA. The use of 1500 mg L⁻¹ and 3000 mg L⁻¹ of IBA showed no differences in the number or average length of roots per minicuttings, live minicuttings or shoots. The root emission of *S. giganteum* occurred probably from the cortical parenchyma cells of the minicuttings and no anatomical barriers were found that impeded this process.

Key-words: Vegetative propagation, minicutting, IBA.

SUMÁRIO

| | | |
|-----|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 11 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA..... | 13 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 16 |
| 3.1 | CONFEÇÃO DAS MINISTACAS..... | 16 |
| 3.2 | ANÁLISE ESTATÍSTICA | 18 |
| 3.3 | ANÁLISES ANATÔMICAS | 18 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 20 |
| 4.1 | MINISTACUA DE <i>Sequoiadendron giganteum</i> | 20 |
| 4.2 | ANÁLISE ANATÔMICA DE <i>Sequoiadendron giganteum</i> | 24 |
| 5 | CONCLUSÃO..... | 26 |
| 6 | REFERÊNCIAS..... | 27 |

1 INTRODUÇÃO

A família Cupressaceae é pertencente ao grupo das coníferas e é comumente conhecida como a família dos ciprestes. Ela ocorre em todos os continentes, exceto na Antártica e compreende cerca de 162 espécies e 32 gêneros (MAO et al., 2012).

Dentre os 32 gêneros da família Cupressaceae, o gênero monotípico *Sequoiadendron* é encontrado naturalmente em uma área restrita de aproximadamente 67 bosques (área total ~ 15,000 ha) ao longo das encostas ocidentais da Sierra Nevada na Califórnia (WILLARD, 2000).

Os indivíduos da espécie *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) J. Buchholz são os arranha-céus da natureza. Eles podem crescer mais de 9 metros em diâmetro e mais de 76 metros em altura. Milhares dessas árvores crescem no perímetro da Floresta Gigante, localizada na Califórnia, incluindo cinco dos dez maiores exemplares de árvores do mundo (WALKER, 2016).

As sequoias gigantes, como também são conhecidas, ocorrem entre 1.524 e 2.134 metros de altitude, onde o derretimento da neve do alto das montanhas de Sierra Nevada confere água em abundância à essas árvores. Além disso, essa elevação proporciona às árvores o ar seco da montanha, necessário para que seus cones se abram e liberem sementes (SZALAY, 2017).

O espécime é capaz de viver várias centenas ou mesmo milhares de anos, estando entre os organismos mais longevos da Terra. Embora nenhum estudo tenha concluído o tempo de vida absoluto dessas árvores, no início do século vinte contagens de anel de crescimento identificaram um troncos de sequoia com mais de 3000 anos, sendo o mais antigo com cerca de 3200 anos (DOUGLASS, 1945).

Há uma valorização muito importante principalmente em seus atributos estéticos e científicos, tendo importância na silvicultura e no estudo da

composição de seu óleo essencial (JERKOVIC et al., 2001; PUSTAHIIJA et al., 2014).

A silvicultura é definida como o estudo da história da vida e das características gerais das árvores florestais, com ênfase nos fatores de localidade. Ela lida principalmente com as relações ecológicas das árvores e suas áreas nativas (FORD-ROBERTSON, 1971).

Foi proposta como uma árvore de reflorestamento na Europa, especialmente em áreas muito frias, onde poderia produzir mais madeira do que outras espécies comuns (cedro, abeto, pinheiro) (PUSTAHIIJA et al., 2014).

Embora existam alguns estudos sobre os óleos essenciais da *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. (sequoias vermelhas), a literatura relata poucas investigações sobre a composição do óleo essencial de *S. giganteum* (JERKOVIC et al., 2001). LEVINSON et al. (1971), estudaram a composição do óleo e descreveram pela primeira vez as mudanças na sua composição durante o crescimento.

A propagação vegetativa por estaquia é utilizada para reduzir os problemas com a baixa taxa de germinação e otimizar a produção de mudas (PEREIRA et al., 2017).

Uma das técnicas de propagação vegetativa para rejuvenescer plantas do estado maduro é a miniestaquia, sendo esta um aprimoramento da estaquia convencional, por utilizar propágulos oriundos de minicepas seminais ou materiais em constante processo de rejuvenescimento. Muitas vezes apresenta maior índice de enraizamento adventício sem uso de reguladores vegetais, por conta do acúmulo de ácido indol acético (IAA) sintetizado naturalmente em regiões com crescimento ativo (HARTMANN et al., 2011).

A miniestaquia tem se destacado como técnica de propagação vegetativa e o seu sucesso depende, basicamente, da formação do sistema radicial dos propágulos e é variável pela genética, além do balanço hormonal e da presença de inibidores, que está relacionado diretamente ao grau de maturação do propágulo (HARTMANN et al., 2011)). Em comparação com a estaquia convencional, a utilização da miniestaquia para diversas espécies é

vantajosa devido à redução da área produtiva (adoção de minijardim clonal), diminuição do período de enraizamento, por se tratar de material rejuvenescido, pela aclimação durante seu cultivo, e principalmente na redução do uso de reguladores vegetais para indução do enraizamento (FERRIANI et al., 2010).

Dentre as auxinas utilizadas exógenamente, o ácido indol butírico têm apresentado os maiores efeitos na formação de raízes (HARTMANN et al., 2011).

Tomando como hipótese deste trabalho a multiplicação vegetativa de *S. giganteum* via miniestaquia sem a necessidade do uso de ácido indol butírico (IBA) para a indução do enraizamento, os objetivos foram: o estudo do enraizamento de miniestacas de *Sequoiadendron giganteum*, coletadas a partir de minijardim instalado previamente, com a aplicação de diferentes concentrações de ácido indol butírico, bem como a realização da descrição anatômica das miniestacas, visando elucidar a presença de barreiras anatômicas à rizogênese.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A maior sequoia gigante é conhecida como General Sherman, localizada na Floresta Gigante dentro do Parque Nacional da Sequoia, cujos estudos recentes estimam sua idade em 2150 anos (STEPHENSON, 2000). Segundo a National Park Service California - NPSC (2017), é a árvore não clonal de maior volume do mundo. Com 83 metros de altura, mais de 11 metros de diâmetro e 31 metros de circunferência na base, pesa cerca de 1,2 milhão de quilogramas.

A mais antiga *S. giganteum* conhecida tinha, pelo menos, 3266 anos. Atualmente, a maioria das grandes sequoias analisadas é jovem, com idades estimadas de 1650 a 2150 anos. Assim, contrariamente ao suposto comum, as maiores *S. giganteum* geralmente devem o seu excelente tamanho ao crescimento rápido e não a uma idade excepcional (STEPHENSON, 2000).

As plantas conseguem essa longevidade regenerando células totipotentes capazes de dar origem a todas as células diferenciadas. Essas células são encontradas nos meristemas radiculares, onde também reside um grupo de células mitoticamente inativas conhecidas como centro quiescente (QC). Os hormônios vegetais relacionadas ao estresse e danos causados ao DNA podem iniciar a divisão celular do QC, resultando na reposição de células totipotentes. Assim, a substituição de células totipotentes danificadas contribuem para a longevidade da planta (HEYMAN et al., 2014).

Quando as sequoias gigantes morrem, muitas vezes esse fato se deve à podridão das raízes ou outro enfraquecimento da base, já que suas raízes são pouco profundas (SZALAY, 2017).

Sua casca é macia e fibrosa, conferindo qualidades que tornam essas árvores extremamente resistentes ao fogo. Além disso, possuem em sua composição taninos, que dão à sua madeira um rico tom de canela e também repelem insetos e fungos (WALKER, 2016).

O fogo prepara o solo, removendo resíduos e o revestimento de matéria vegetal em decomposição e limpa a cobertura florestal, deixando-a livre de outras plantas que podem bloquear a luz solar. Ele também é necessário para a reprodução da sequoia gigante, dado que ele seca e abre cones velhos, que podem se manter fechados por até 20 anos em situações ambientais normais, devido à sua propriedade fotossintetizante (Kilgore & Biswell, 1971; NPSC, 2016).

Embora a madeira das árvores velhas de *S. giganteum* seja frágil e quebradiça, as propriedades da madeira das sequoias gigantes jovens são comparáveis ou mais favoráveis do que as *S. sempervirens*. Dessa forma, elas podem ser utilizadas em plantios florestais para aumentar os suprimentos futuros de madeira com as mesmas características que são altamente valorizadas em sequoias vermelhas (WEATHERSPOON et al., 1985).

As sementes, cuja quantidade de 91 mil pesa apenas 450 gramas, necessitam cair em solo mineral nú, sem ervas daninhas, para germinarem (NPSC, 2016).

A reprodução natural na sequoia gigante é um processo frágil e demorado. Do enorme número de sementes lançadas a cada ano, muito poucas encontram a combinação das condições necessárias para se transformar em mudas com sucesso. Em contraste com a maioria das sementes de coníferas, uma grande maioria das sementes de *S. giganteum* morre de dessecação e radiação solar logo após atingir chão da floresta, especialmente durante o verão (WEATHERSPOON, 1990). As sementes não possuem estágio de dormência, então as sementes sobreviventes germinam assim que as condições são favoráveis (THOMAS et al., 1980).

Segundo THOMAS et al., (1980), a viabilidade das sementes retiradas dos cones e colocadas em contato ao chão cai de 45% para 0% em 20 dias. As sementes coletadas no chão da floresta mostram uma viabilidade média de 1%.

Técnicas para a multiplicação de *S. giganteum* mostraram que a formação da raiz é um passo crítico, que depende da idade da planta matriz e da origem do clone (BERTHON et al., (1989).

Estacas obtidas a partir de *S. giganteum* juvenis (1 ano de idade) enraizam em porcentagens elevadas, obtendo uma taxa de até 94% (BERTHON, et al., 1987). Menor sucesso (taxas de 70% até 88%) de enraizamento é alcançado em estacas de sequoias mais velhas (30 a 40 anos) (FINS, 1981).

Segundo MONTEUUIS (1987), diferenças nas capacidades de formação de raízes entre doadores juvenis e mais velhos podem ser reduzidas se as estacas forem retiradas no momento de brotação, ao invés de serem coletadas durante o período de repouso vegetativo.

A estaquia é uma técnica de propagação vegetativa, sendo que esta utiliza qualquer parte destacada da planta mãe a fim de produzir um indivíduo idêntico à ela (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001). Tendo em vista a necessidade de produção de mudas em larga escala para diversos fins, pode representar uma alternativa promissora para espécies lenhosas que

manifestem dificuldade de enraizamento do material adulto ou cujas sementes representem fator limitante (FERRIANI et al., 2010).

A miniestaquia é um aprimoramento da estaquia convencional, por utilizar propágulos oriundos de minicepas seminais ou materiais em constante processo de rejuvenescimento, facilitando a indução do enraizamento (HARTMANN et al., 2011).

Basicamente, a miniestaquia consiste na utilização de brotações de plantas propagadas pelo processo de estaquia, ou mudas produzidas por sementes, dispensando o rejuvenescimento *in vitro* (WENDLING; XAVIER, 2001). É uma alternativa que pode suprir a necessidade do resgate da juvenilidade do material vegetativo, apontada por diversos autores como limitante da capacidade de indução radicial geradas pelo processo de maturação (BONGA, 1982; ZOBEL; TALBERT, 1984; HARTMANN et al., 2011).

Segundo HARTMANN et al., (2011), o uso de auxinas sintéticas para o enraizamento de estacas ou miniestacas vem sendo uma prática cada vez mais comum. Dentre as auxinas sintéticas, o ácido indol butírico (IBA) e ácido naftalenoacético (NAA) são as mais utilizadas. Embora o NAA seja mais estável, o IBA é eficaz em um maior número de espécies, de modo que se a estaca não responder a ele, dificilmente responderá a aplicação de outra auxina sintética.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Miniestacas de *S. giganteum* foram coletadas a partir de minicepas com 3 anos de idade, de origem seminal e posteriormente clonal, produzidas previamente (Figura 1A), localizadas no viveiro a pleno sol do Laboratório de Macropropagação (GEPE – Grupo de Estudo e Pesquisa em Estaquia), localizado no Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Curitiba-PR.

3.1 CONFECÇÃO DAS MINIESTACAS

As miniestacas foram coletadas no final do verão (março de 2017), sendo confeccionadas com 5-7 cm de comprimento, corte em bisel na base e reto no ápice (Figura 1B), sendo retiradas somente as folhas do terço inferior das mesmas.

As bases das miniestacas foram submetidas a tratamentos (T), com diferentes concentrações de ácido indol burítico (IBA), em solução hidroalcoólica 50% por 10 segundos de imersão, conforme segue:

✓ T1: 0 mg L⁻¹ IBA

✓ T2: 1500 mg L⁻¹ IBA

✓ T3: 3000 mg L⁻¹ IBA

O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno (53 cm³) com o substrato composto por vermiculita de granulometria fina e Tropstrato® (substrato comercial) na proporção de 1:1 (v/v), previamente umedecido (Figura 1C), mantidos em casa de vegetação climatizada (Figura 1D), com temperatura média de 25°C ± 2°C e umidade relativa do ar UR=85%, localizada no Setor de Ciências Biológicas, da UFPR, em Curitiba-PR. Após 125 dias da instalação, foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de enraizamento (miniestacas vivas e que emitiram raízes de, no mínimo, 2 mm de comprimento), número médio de raízes/miniestaca, comprimento médio das 3 maiores raízes por miniestaca, porcentagem de miniestacas com calos (miniestacas vivas, sem raízes, que emitiram massa de células indiferenciadas na base), porcentagem de miniestacas vivas (miniestacas que não emitiram raízes e nem massa de células indiferenciadas na base), porcentagem de miniestacas mortas, porcentagem de miniestacas que mantiveram as folhas iniciais e porcentagem de miniestacas que apresentaram novas brotações.

3.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi avaliado num delineamento inteiramente casualizado, utilizando 3 tratamentos com 4 repetições de 20 miniestacas por unidade experimental, totalizando 240 miniestacas. Os resultados foram submetidos à análise de homogeneidade de variância pelo teste de Bartlett, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

3.3 ANÁLISES ANATÔMICAS

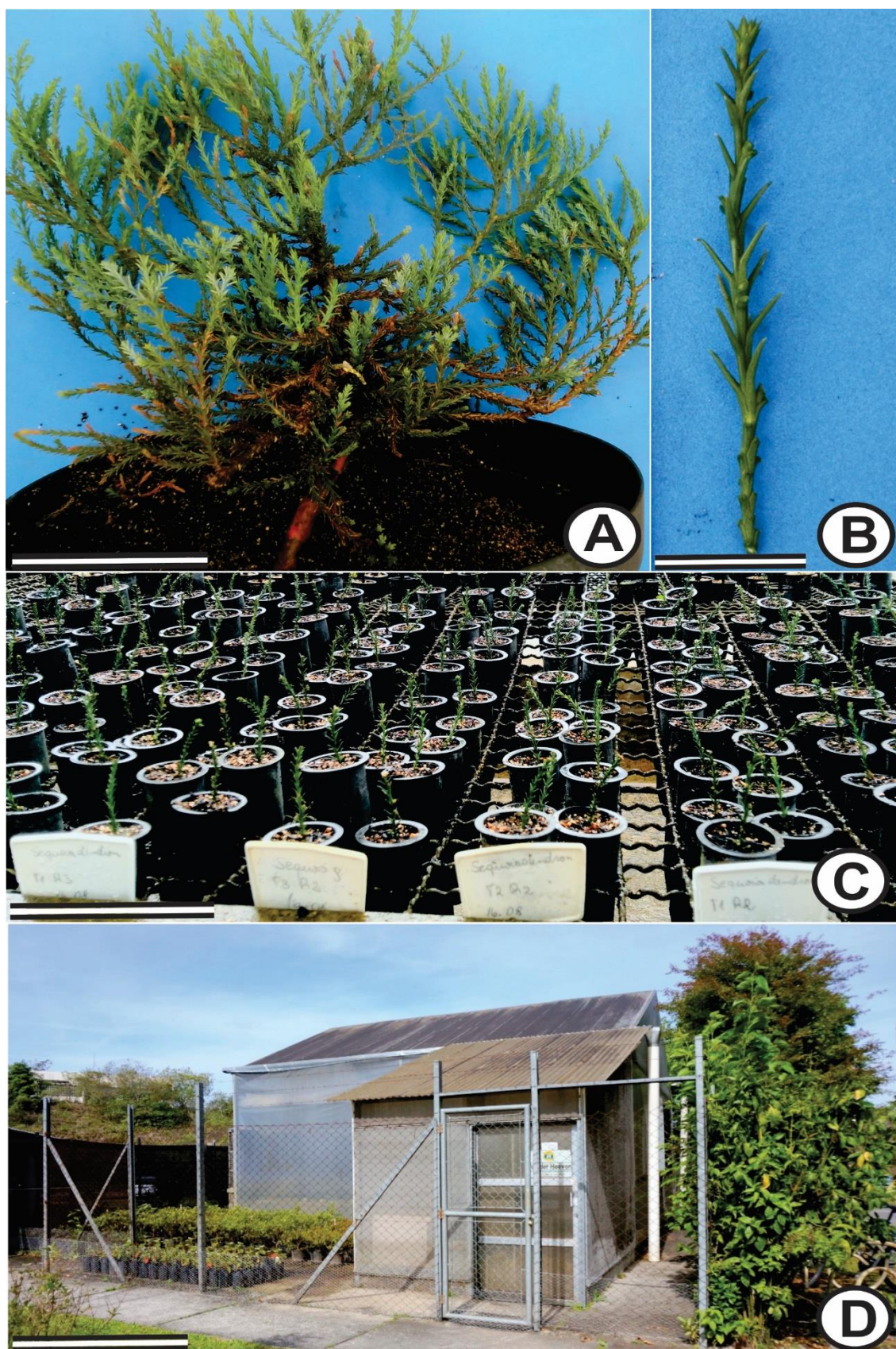
As análises anatômicas foram realizadas no Laboratório de Anatomia e Biomecânica Vegetal – Departamento de Botânica, pertencente à Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba-PR.

Aproximadamente 3 cm das bases de 3 miniestacas de cada tratamento foram coletadas nos momentos da instalação e avaliação do experimento.

As amostras caulinares fixadas em FAA⁵⁰, desidratadas em série etílica e incluídas em resina e endurecedor Hardener, (JOHANSEN, 1940; RICKLI, 2012), foram utilizadas para a confecção de lâminas. Cortes transversais, com 11 µm de espessura, foram obtidos em micrótomo e corados com azul-de-toluidina pH 4,0 em solução aquosa (1:1) para caracterização estrutural. O azul de toluidina é um corante metacromático, que reage com paredes lignificadas corando-as de azul esverdeado e com paredes celulósicas corando-as em roxo (SALAMONI, 2009). As lâminas

As lâminas foram devidamente montadas, analisadas e documentadas por meio de fotomicrografias em fotomicroscópio Zeiss com câmera digital Sony Cyber-shot P72 acoplada, realizadas no Laboratório de anatomia e Biomecânica Vegetal – Departamento de Botânica, UFPR, Curitiba – PR.

FIGURA 1: *Sequoiadendron giganteum*: A: MINICEPA DE MINIJARDIM COM 3 ANOS DE IDADE. BARRA: 15 CM. B: CONFECÇÃO DE MINIESTACA COM 5-7 CM DE COMPRIMENTO, CORTE EM BISEL NA BASE E RETO NO ÁPICE. BARRA: 2 CM. C: PLANTIO DE MINIESTACAS EM TUBETES DE POLIPROPILENO COM VERMICULITA E TROPSTRATO®. BARRA: 15 CM. D: CASA DE VEGETAÇÃO NO SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, UFPR. BARRA: 2 M.



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 MINIESTAQUIA DE *Sequoiadendron giganteum*

De acordo com a análise de variância (ANOVA) (Tabela 1) e comparação de médias (Tabela 2), foi detectada diferença significativa para a porcentagem de mortalidade (Figura 2A).

A menor taxa de mortalidade ocorreu no tratamento com 0 mg L⁻¹ IBA (T1) resultando em 2,5%, diferenciando significativamente do maior índice de mortalidade com 11,25% no tratamento administrado com 3000 mg L⁻¹ IBA (T3), seguido pelo tratamento com 1500 mg L⁻¹ IBA (T2), com índice de 10,0% de mortalidade (Tabela 2).

Isso indica um provável efeito inibitório de IBA, já que provocou maior taxa de mortalidade. Isso se deve possivelmente à um balanço hormonal positivo, cuja concentração endógena de auxina já é suficiente para a indução do desenvolvimento do sistema radicial em *S. giganteum*.

Segundo SILVA et al. (2004), o uso de altas concentrações pode matar a base da estaca, causando excessiva proliferação de células, intensa calosidade ou inibição do crescimento de raízes e da parte aérea.

Segundo (PIZZATTO et al., 2011; HARTMANN et al., 2011), a concentração endógena de ácido indol acético (IAA), hormônio responsável pela formação de raízes, pode ser abundante ou escassa, de acordo com a condição fisiológica, genética, nível de IAA-oxidase e época de coleta dos propágulos.

É importante destacar também que, quando não foram aplicadas concentrações exógenas de IBA, pôde-se obter porcentagens de 67,5% de enraizamento. Esse valor não diferiu significativamente de T2 e T3 que apresentaram média de enraizamento de 53,75 e 56,25%, respectivamente. Supõe-se, por isso, que as miniestacas de sequoia gigante produzem quantidades suficientes de auxinas endógenas, que permitem esse alto

percentual de enraizamento, podendo a espécie ser classificada como de fácil propagação vegetativa (PIZZATTO et al., 2011).

TABELA 1 ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) DE MINIESTACAS DE *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) J. Buchholz, PARA AS VARIÁVEIS: MINIESTACAS ENRAIZADAS (ME), NÚMERO DE RAÍZES/MINIESTACA (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DAS RAÍZES/MINIESTACA (CM), MINIESTACAS VIVAS (MV), MORTAS (MM) E COM BROTAÇÕES (MB), NA ESTAÇÃO DO VERÃO, SUBMETIDAS A 3 CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO ÍNDOL BUTÍRICO (IBA), CURITIBA-PR (2017).

| FONTE DE VARIAÇÃO | GL | QUADRADO MÉDIO | | | | | |
|----------------------|----|----------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| | | ME | NR | CM | MV | MM | MB |
| Concentrações de IBA | 2 | 214,58 ^{ns} | 0,04 ^{ns} | 0,26 ^{ns} | 43,75 ^{ns} | 89,58 ^{**} | 352,08 ^{ns} |
| Erro | 9 | 229,16 | 0,11 | 1,38 | 154,16 | 10,63 | i |
| Total | 11 | | | | | | |
| CV (%) | | 25,59 | 22,12 | 51,95 | 38,20 | 41,20 | 38,05 |
| Teste de Bartlett | | 0,72 | 5,37 | 0,41 | 1,71 | 0,65 | 0,59 |

ns: não significativo a 5%; *: significativo a 5%; **: significativo a 1%

TABELA 2: COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DAS VARIÁVEIS MINIESTACAS DE *Sequoiadendron gignsteum* ENRAIZADAS (ME), NÚMERO DE RAÍZES/MINIESTACA (NR), COMPRIMENTO MÉDIO DAS RAÍZES/MINIESTACA (CM), MINIESTACAS VIVAS (MV), MORTAS (MM) E COM BROTAÇÕES (MB), NA ESTAÇÃO DO VERÃO, SUBMETIDAS A 3 CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO ÍNDOL BUTÍRICO (IBA), APÓS 125 DIAS DE PERMANÊNCIA EM CASA DE VEGETAÇÃO, CURITIBA-PR (2017).

| TRATAMENTO | VARIÁVEIS | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|-----------|---|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|-------|---|
| | ME | | NR | | CM | | MV | | MM | | MB | |
| | % | | | | cm | | % | | % | | % | |
| 0 mg L ⁻¹ IBA | 67,50 | a | 1,41 | a | 2,18 | a | 30,00 | a | 2,50 | b | 51,25 | a |
| 1500 mg L ⁻¹ IBA | 53,75 | a | 1,50 | a | 2,05 | a | 36,25 | a | 10,00 | a | 32,50 | a |
| 3000 mg L ⁻¹ IBA | 56,25 | a | 1,61 | a | 2,55 | a | 31,25 | a | 11,25 | a | 41,25 | a |
| CV (%) | 25,59 | | 22,12 | | 51,95 | | 38,20 | | 41,20 | | 38,05 | |

Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV = Coeficiente de Variação

Quanto a variável número de raízes por miniestaca pode-se observar um maior número das mesmas com o aumento na concentração de IBA, sendo as médias 1,41 (T1), 1,50 (T2) e 1,61 (T3), cujos valores não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos.

Este resultado pode estar relacionado ao papel deste fitoregulador na rizogênese adventícia, uma vez que faz com que o processo ocorra de maneira mais acelerada favorecendo o surgimento de maior número de raízes de forma mais acelerada (PIZZATTO et al., 2011).

As variáveis porcentagem de miniestacas vivas (Figura 2B) e presença de brotações (Figura 2C) também não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2).

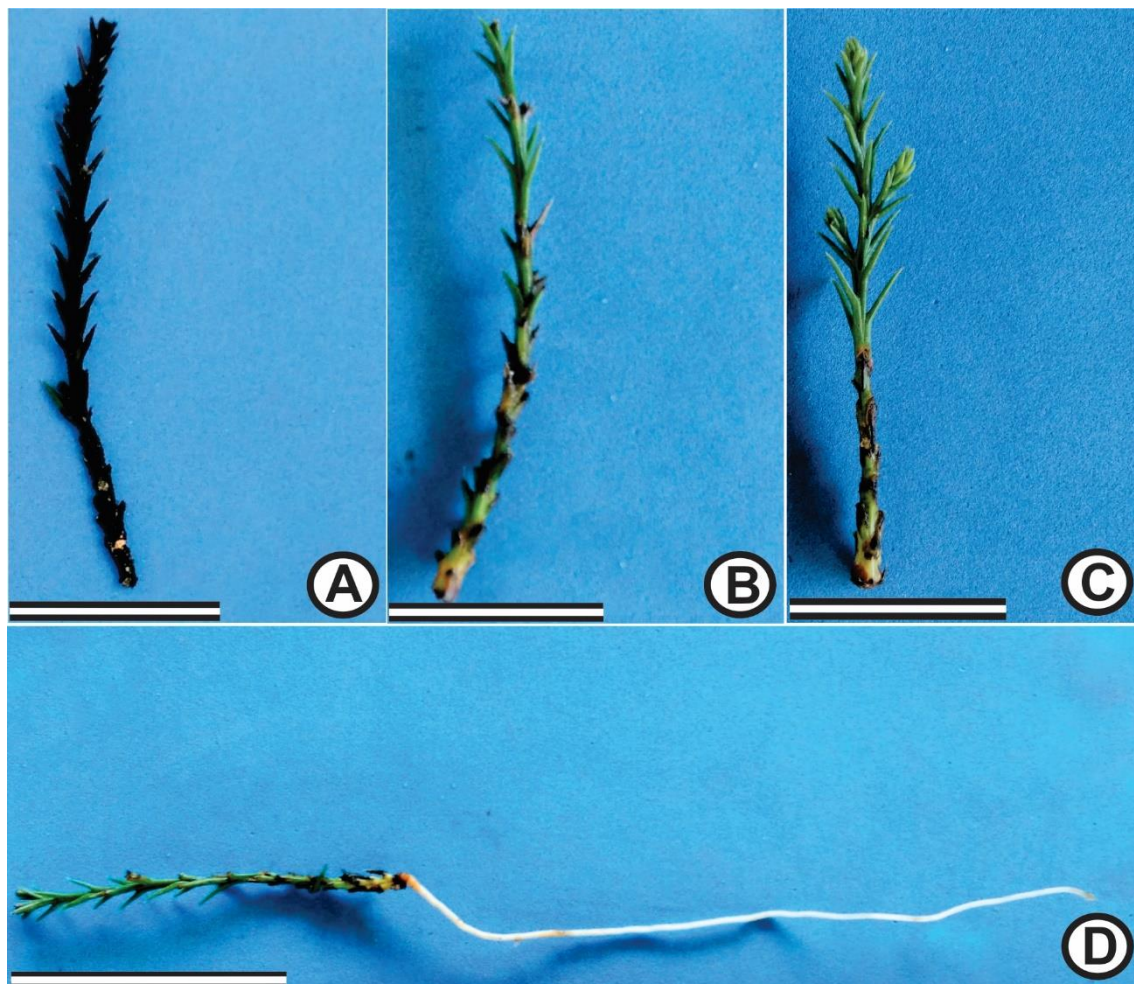
Os consideráveis bons índices de brotação (51,25%, 32,50% e 41,25%) ocorreram, possivelmente, devido à reserva de carboidratos contida nas folhas mantidas na confecção das miniestacas. Por possuírem conteúdo de carboidratos de reserva, também ocorre a sua maior utilização na formação do sistema radicial e na brotação das gemas da parte aérea (PIZZATTO et al., 2011).

Somando as taxas de enraizamento e de miniestacas vivas de T1 (0 mg L⁻¹ IBA), sendo elas 67,5 e 30%, respectivamente, tem-se uma alta taxa de sobrevivência das miniestacas de *S. giganteum*.

Essa alta sobrevivência das miniestacas pode ser resultado das boas condições climáticas durante a coleta e cultivo do experimento e também da boa capacidade da espécie em sobreviver após a confecção das miniestacas. Esse resultado provavelmente ocorreu em função de as miniestacas apresentarem alta lignificação dos tecidos, conteúdo de carboidratos, aminoácidos e de outras substâncias, como auxinas, que serviram como reserva energética (HARTMANN et al., 2011).

FACHINELLO et al., (2005) observaram que a real importância dos carboidratos para formação de raízes é que a auxina requer fonte de carbono para a biossíntese de ácidos nucleicos e proteínas, levando à necessidade de energia e carbono para formação das raízes.

FIGURA 2: *Sequoiadendron. giganteum* A: MINIESTACA MORTA. BARRA: 2 CM. B: MINIESTACA VIVA. BARRA: 2 CM. C: MINIESTACA COM BROTAÇÕES. BARRA: 2 CM. D: MAIOR COMPRIMENTO DE RAIZ ENCONTRADO, PERTENCENTE AO TRATAMENTO T2. BARRA: 4 CM.



O comprimento médio das 3 maiores raízes/miniéstaca resultou em 2,18 cm (T1), 2,05 cm (T2) e 2,55 cm, sem diferença significativa. O maior comprimento de raiz encontrado obteve 11 cm de comprimento (Figura 2D).

Insuficientes calos foram observados durante o período avaliado, e portanto, não possuíram influência estatística. De acordo com HARTMANN et al., (2011), calos não necessariamente induzirão a formação de raízes e também não se mostram necessariamente imprescindíveis para formação destas.

Com esses dados considera-se mais vantajoso a não aplicação do regulador vegetal em miniestacas de *S. giganteum*, tendo em vista a maior mortalidade promovida pelo IBA, além da taxa de enraizamento maior ter sido maior no controle (0 mg L⁻¹ IBA). Dessa forma, sem a necessidade da utilização do ácido indol butírico, tem-se uma instalação vantajosa também economicamente.

4.2 ANÁLISE ANATÔMICA DE *Sequoiadendron giganteum*

As observações realizadas em secções transversais de miniestacas de *S.giganteum* provenientes de brotações do ano de plantas matrizes clonais revelaram uma fina camada de felogênio, um córtex grosso composto por parênquima cortical, floema contínuo e xilema secundário desenvolvido (Figura 3). Com registro detalhado destaca-se o câmbio vascular, formado por algumas camadas de células indiferenciadas de coloração mais intensa, além de estômatos com visível câmara sub-estomática e canais resiníferos (Figura 4A e 4B), além da possível localização da origem da diferenciação celular que desencadeou a rizogênese (Figura 4C).

De uma maneira geral, para todos os tratamentos utilizados, a emissão de raízes de *S. giganteum* deu-se provavelmente a partir das células do parênquima cortical das miniestacas.

FIGURA 3: *Sequoiadendron giganteum*, A: VISÃO ANATÔMICA CAULINAR GERAL EM AUMENTO DE 4X. BARRA: 300 μ m. B: CORTE ANATÔMICO EM 10X. BARRA: 100 μ m. C: XILEMA SECUNDÁRIO EM AUMENTO DE 40X. BARRA: 50 100 μ m. LEGENDA: Pc = PARÊNQUIMA CORTICAL; FI = FLOEMA; Xi = XILEMA SECUNDÁRIO; Ca = CÂMBIO VASCULAR; Fe = FELOGÊNIO.

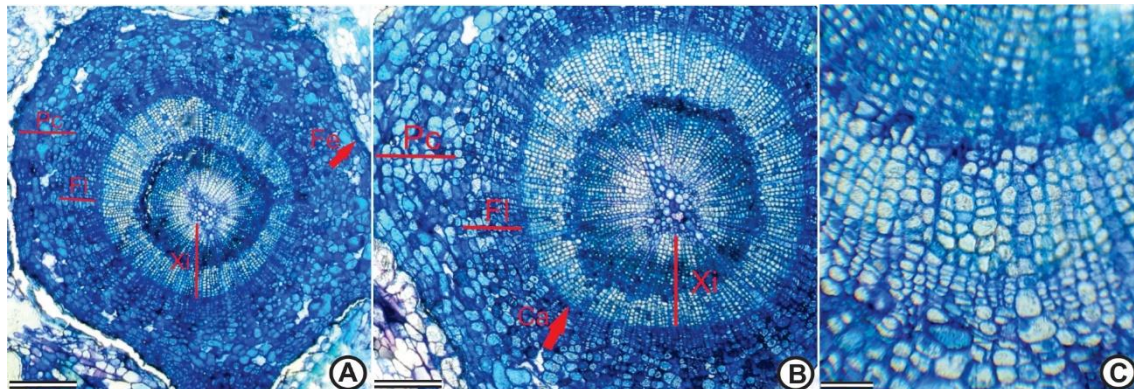
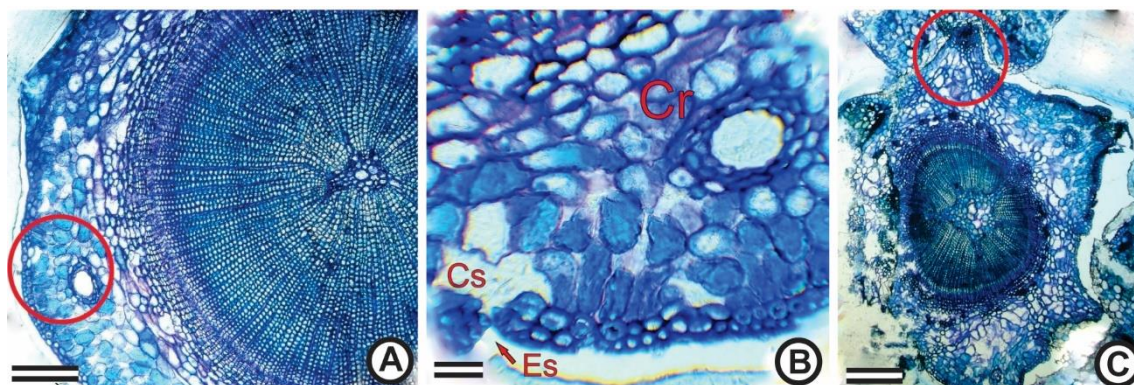


FIGURA 4: *Sequoiadendron giganteum*. A: CANAL RESINÍFERO EM AUMENTO DE 10X. BARRA = 200 μ m. B: CANAL RESINÍFERO E ESTÔMATO EM AUMENTO DE 40X. BARRA = 50 μ m. C: LOCAL DE RIZOGÊNESE EM AUMENTO DE 4X AOS 125 DIAS. BARRA = 300 μ m. LEGENDA: Cr = CANAL RESINÍFERO; Cs = CÂMARA SUB-ESTOMÁTICA; Es = ESTÔMATO.



5 CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo pode-se concluir que a miniestaquia de *Sequoiadendron giganteum* apresenta enraizamento satisfatório (67,5%) e mortalidade baixa (2,5%) sem o uso de IBA. Miniestacas de *S. giganteum* não apresentam barreiras anatômicas impeditivas à rizogênese, sendo esta originária provavelmente a partir do parênquima cortical das miniestacas.

6 REFERÊNCIAS

BERTHON, J. Y.; BOYER, N.; GASPAR, T. Sequential rooting media and rooting capacity of *Sequoiadendron giganteum* *in vitro*: Peroxidase activity as a marker. **Plant Cell Reports**, v.6, p. 341-344, 1987.

BERTHON, J. Y.; MALDINE, R.; SOTTA, B.; GASPAR, T.; BOYER, N. Endogenous Levels of Plant Hormones during the Course of Adventitious Rooting in Cuttings of *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) *in vitro*. **Biochem. Physiol. Pflanzen.**, v.1, n.184, p. 405-412, 1989.

BONGA, J. M. Vegetative propagation in relation to juvenility, maturity and rejuvenation. In BONGA, J.M; DURZAN, D.J. Tissue culture in forestry. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk, **The Hague**, p. 387-412, 1982.

DOUGLASS, A. E. Climatic cycles and tree growth. Carnegie Institute of Washington Publication, Washington, v. 1, n. 289, 1945.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A. & NACHTIGAL, J.C. Propagação de plantas frutíferas. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p. 221, 2005.

FERRIANI, A.P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; A.P., WENDLING, I. Miniestação aplicada a espécies florestais. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 4, n. 2, p. 102-109, 2010.

FINS, L. Propagation of giant sequoia by rooting cuttings. Proceedings of the International Plant Propagators' Society, n.30, p.127-132, 1981.

FORD-ROBERTSON, F C. Terminology of forest science, technology, practice and products. Washington, DC: **Society of American Foresters**; p.349, 1971.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; JUNIOR DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. New Jersey: Englewood Clipp, 8th. ed., p.900, 2011.

HEYMAN, J.; KUMPF, R.P.; VEYLDER, L. A quiescent path to plant longevity. Department of Plant Systems Biology, Vlaams Instituut voor Biotechnologie

(VIB), and Department of Plant Biotechnology and Bioinformatics, Ghent University, 9052 Gent, Belgium, Vol. 24, p. 443-448, 2014.

JERKOVIC, I.; J. MASTELIC, J.; MILOS, M. Chemical Composition of the Essential Oil of *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) Buch h. Cultivated in Croatia. Faculty of Chemical Technology, Split, Croatia, v. 15, p. 36-38, 2001.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York, MacGraw-Hill Book Co. 1940.

KILGORE, B. M.; BISWELL, H.H. Seedling germination following a fire in a giant sequoia forest. **California Agriculture** v.25, p.8–10, 1971.

LEVINSON, A.S.; LEMOINE, G. CRAIG SMART, E. Volatile oil from foliage of *Sequoiadendron giganteum*: change in composition during growth. **Phytochemistry**, v. 10, p. 1087-1094, 1971.

MAO, K.; MILNEA, R.I.; ZHANG, L.; PENG, Y.; LIU, J.; THOMAS, P.; Robert R. MILLER, R.R.; RENNERT, S.S. Distribution of living *Cupressaceae* reflects the breakup of Pangea. Proceedings of the National Academy of Sciences, Cambridge, v.109, n.20, p. 1-10, 2012.

MONTEUUIS, O. *In vitro* meristem culture of juvenile and mature *Sequoiadendron giganteum*. **Tree Physiology**, v.3, n.3, p.265-272, 1987.

NATIONAL PARK SERVICE CALIFORNIA (NPSC). Giant Sequoias, 2016. Disponível em: < <https://www.nps.gov/seki/learn/nature/bigtrees.htm> >. Acesso em: 08 de ago. 2017.

NATIONAL PARK SERVICE CALIFORNIA (NPSC). The General Sherman Tree, 2017. Disponível em: <<https://www.nps.gov/seki/learn/nature/sherman.htm>>. Acesso em: 23 de jul. 2017.

PEREIRA, M.O.; NAVROSKI, M.C; ÂNGELO, A.C.; FRIGOTTO T.; MENEGUZZI, A.; FELIPPE, D. Enraizamento de estacas de *S. sempervirens* (D. Don) Endl. em função de concentrações e reaplicações de AIB. **Revista Espacios**, v. 38, n. 21, p. 15, 2017.

PIZZATO, M.; WAGNER JR, A.; LUCKMANN, D.; PIROLA K.; CASSOL, D. A.; MAZARA, S.M. Influência do uso de AIB, época de coleta e tamanho de estaca na propagação vegetativa de hibisco por estaquia. **Revista Ceres**, v. 58, n.4, p. 487-492, 2011.

PUSTAHIIJA, F.; SUBASIC, M.; BASIC, N. Phenolic content in the needles of *Cryptomeria japonica* (Thunb. ex L. F.) D. Don, *Cupressocyparis x Lleylandii* (A.B. Jacks. & Dallim.) Dallim. "castlewellan gold" and *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) J. Buchholz. Works of the Faculty of Forestry, University of Sarajevo, v. 1, n. 2, p. 41-51, 2014.

RICKLI, H. C. Propagação de Guaricica (*Vochysia Bifalcata* Warm.) por sementes e estaquia caulinar. 2012. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2012.

SALAMONI, A. APOSTILA DE PRÁTICAS DE MORFOLOGIA VEGETAL. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA CESNORS, Frederico Westphalen, p. 1-10, 2009.

Silva, J.M.; RAPOSO, A.; SOUSA, J.A.; MIRANDA, E.M. Indução de enraizamento em estacas de João Brandinho (*Piper sp.*) com ácido indol butírico. **Revista Ciência Agronômica**, v.35, p. 248-252, 2004.

STEPHENSON, N. L. Estimated ages of some large giant sequoias: General Sherman keeps getting younger. *Madroño*, California Botanical Society, Vol. 47, n. 1, p. 61-67, 2000.

SZALAY, J. Giant Sequoias and Redwoods: The Largest and Tallest Trees, LiveScience, 2017. Disponível em: < <https://www.livescience.com/39461-sequoias-redwood-trees.html>>. Acesso em: 23 de jul. 2017.

THOMAS, H. H.; SHELLHAMMER, H.S.; STECKER, R.E. Giant sequoia ecology. Department of the Interior, National Park Service, U.S., p.182, 1980.

WALKER, T. Are Giant Sequoia Trees Succumbing to Drought? Scientific American, 2016. Disponível em: < <https://www.scientificamerican.com/article/are-giant-sequoia-trees-succumbing-to-drought/>>. Acesso em: 09 de ago. 2017.

WEATHERSPOON, C.P.; IWAMOTO, Y. R.; PIIRTO, D. D. Management of Giant Sequoia. Department of Proceedings of Agriculture, Reedley, California, v. 1, p. 1-43, 1985.

WEATHERSPOON, C.P. *Sequoiadendron giganteum* (Lindl.) Buchholz Giant Sequoia. Silvics of North America, Conifers Agriculture Handbook, v.1, p.552-562, 1990.

WENDLING, I. XAVIER, A. GRADIENTE DE MATURAÇÃO E REJUVENESCIMENTO APLICADO EM ESPÉCIES FLORESTAIS. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n.1, p.187 - 194, 2001.

WILLARD, D. A guide to the sequoia groves of California. Yosemite Association, El Portal, California, v. 1, p. 6-7, 2000.

ZOBEL, B.; TALBERT J. Vegetative propagation. In: Applied forest tree improvement. North Carolina State University, p. 505, 1984.

ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; RODRIGUES, J. D. Estaquia: Uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos. Curitiba, v.1, p.39, 2001.